

녹조대발생종 솜대마디말(*Cladophora albida*)의 유주자 방출과 초기생장에 환경요인이 미치는 영향

나연주 · 전다빈 · 이정록 · 박서경¹ · 김영식² · 최한길* · 남기완³

원광대학교 생명과학부/환경과학연구소, ¹(주)연안관리기술연구소, ²군산대학교 해양생물공학과, ³부경대학교 자원생물학과

Effects of Environmental Factors on Zoospore Release and Early Growth of the Green Tide Alga *Cladophora albida*

Yeon Ju Na, Da Vine Jeon, Jung Rok Lee, Seo Kyoung Park¹, Young Sik Kim², Han Gil Choi* and Ki Wan Nam³

Faculty of Biological Science and Institute for Environmental Science, Wonkwang University, Iksan 54538, Korea

¹Institute of Coastal Management and Technology, Muan 58552, Korea

²Department of Marine Biotechnology, Kunsan National University, Kunsan 54150, Korea

³Department of Marine Biology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

We examined the effects of environmental factors on zoospore release and germling growth of the green tide alga *Cladophora albida* under various conditions of temperature×irradiance (zoospore release), temperature×irradiance×nutrient (germling growth), and a single factor test of salinity. Zoospore release was maximized at 30°C and 100 μmol photons m⁻²s⁻¹ in the temperature-irradiance experiment and at 34 psu in the salinity experiment. Maximum germling growth was observed at 25°C with 100 μmol photons m⁻²s⁻¹ and PES (Provasoli's Enriched Seawater) in the temperature-irradiance-nutrient experiment, and at 34 psu in the salinity experiment. Germlings grew faster at higher irradiances for a given temperature level, and also grew faster as salinity increased over the range of 5-34 psu. Overall, optimal environmental conditions for zoospore release were 30°C, 100 μmol photons m⁻²s⁻¹ and 34 psu. Maximal germling growth occurred at 25°C, 100 μmol photons m⁻²s⁻¹, PES, and 34 psu. *C. albida* blooms are most likely to occur under these optimal environmental conditions, as plentiful zoospore release and rapid germling growth lead to population growth.

Key words: *Cladophora albida*, Green tide, Growth, Temperature, Zoospore release

서론

녹조류인 갈파래류, 염주말류와 대마디말류의 생물량이 급증하는 현상인 녹조대발생(green tide)은 전 세계 부영양화 해역에서 빈번하게 나타나고 있다(Nelson et al., 2003b; Ha et al., 2016). 녹조대발생은 타감물질(도파민, 활성산소)과 황화수소와 같은 독성물질을 생성하여 무척추동물과 어류의 종다양성 및 생물량을 감소시키며(Le Luherne et al., 2016), 저서 및 부유미세조류(planktonic microalgae)의 성장을 감소시킨다(Nelson et al., 2003a; Tang and Gobler, 2011). 또한, 대발생한 해조류는 매트를 형성하여 태양광을 차단함으로써 해초류의 서식

수심과 광합성을 감소시키며(Moreno-Marín et al., 2016), 수산업과 관광업에 경제적 손실을 야기한다(Nelson et al., 2008). 예를 들어, 중국에서 2008년에 일어난 가시파래(*Ulva prolifera*)의 대발생은 해삼과 패류 양식장에서 각각 약 500억원(US\$ 40 million)의 경제적 피해를 초래하였다(Ye et al., 2011; Gao et al., 2016). 일반적으로 대발생을 일으키는 녹조류는 표면적이 넓은 엽상형(e.g., *Ulva armoricana*, *Ulva rotundata*) 또는 사상형(e.g., *Ulva intestinalis*, *Chaetomorpha valida*)이며, 영양염 흡수와 광합성효율이 높은 생리적 특성을 가진 일년생의 기회종이다(Taylor et al., 2001; Nelson et al., 2008; Choi et al., 2010). 또한, 이들은 광, 온도, 염분에 대하여 광범위한 내성을

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2017.0175>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 50(2) 175-182, April 2017

Received 6 January 2017 Revised 16 March 2017; Accepted 20 March 2017

*Corresponding author: Tel: +82. 63. 850. 6579 Fax: +82. 63. 857. 8837

E-mail address: hgchoi@wku.ac.kr

가지며(Taylor et al., 2001; Nelson et al., 2008; Human et al., 2016), 다량의 유주자를 생성하고(Lin et al., 2008), 다양한 유·무성 생식 방법을 가진다(Lin et al., 2008; Zhang et al., 2016). 예를 들어, 격자파래(*Ulva clathrata*)와 참갈파래(*Ulva lactuca*)는 이집트의 호수에서 2014년에 대발생하였는데(El Shoubaky, 2015), 참갈파래는 다년생 해조류에 비해 영양염 흡수가 4-6배 빠른 것으로 나타났다(Pedersen and Borum, 1997).

Deng et al. (2011)은 염주말 성체의 절편은 새로운 개체로 성장하거나, 생식세포를 빠르게 형성하여 유주자를 방출한다고 하였다. 많은 연구자들은 유주자 형성과 방출, 그리고 배아 생장은 환경요인과 밀접하게 관련되며, 개체군 증감과 연결된다고 하였다(Lotze et al., 1999, 2000; Song et al., 2015). 해조류 배아는 열악한 환경에서 발아 및 생장이 거의 멈춘 휴면상태의 포자은행(propagule bank)으로 존재하다가 호조건으로 바뀌면, 빠른 발아와 성장을 보이기 때문에(Lotze et al., 1999, 2000; Rinehart et al., 2014), 어떤 종의 개체군 변동을 이해하기 위해서는 다양한 환경요인이 배아생장에 미치는 영향을 파악해야 한다. 대마디말류(*Cladophora* spp.)의 대발생은 터키에서 *C. laetevirens*, 하와이에서 *C. sericea*, 미국과 러시아에서 *C. glomerata* 등에 의해서 전 세계에서 여름철(7-9월)에 일어났다(Smith et al., 2005; Malkin et al., 2008; Gubelit and Berezina, 2010; Balkis et al., 2013). 해안에 축적된 대마디말류는 부패하여 황화수소(H_2S) 발생과 무산소층(anoxic layer)을 형성하여 해양생물의 종다양성 감소 및 관광업의 피해를 가져왔다(Lavery and McComb, 1991; Panov et al., 2002). 솜대마디말(*Cladophora albida* (Ness) Kützinger)은 온대에서 열대해역까지 널리 분포하며 솜뭉치처럼 다발을 형성하는 종으로(Cambridge et al., 1990), 광온성(-8~35°C)이고, 여름에 번무하는 것으로 알려져 있다(Cambridge et al., 1990). 솜대마디말 성체는 고온인 30°C에서 최대 광합성(Gordon et al., 1980), 23°C에서 최대 성장률을 보였으며, 생존과 성장에 광염성(0-30 psu)을 나타냈다(Hayakawa et al., 2012).

최근, 한국 서해안의 금발대마디말(*Cladophora vadorum*)의 대발생(습중량 기준 약 214톤)의 원인은 적정온도(25°C)와 높은 인산염 농도(0.44 mg L⁻¹)였으며, 중요한 메카니즘은 영양번식(vegetative reproduction) 방법으로 확인되었다(Ha et al., 2016; Na et al., 2016). 솜대마디말은 우리나라 모든 조건에 암반에 서식하는 사상형 녹조류로서 적정 수온과 영양염 농도에 도달하면, 대발생을 일으킬 수 있는 잠재종이다. 따라서, 본 연구는 솜대마디말 성체 절편의 유주자 생성 및 방출, 그리고 배아의 성장에 환경요인이 미치는 영향을 파악하여, 대발생이 일어날 수 있는 해역의 환경을 예측할 수 있는 자료를 제공하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

샘플채집과 유주자 방출

솜대마디말 포자체는 충청남도 태안군 만리포(36°78' N, 126°13' E)에서 2015년과 16년 5월에 채집하였으며, 현장에서 해수가 담긴 지퍼백에 넣고 아이스박스에 담아 실험실로 운반하였다. 염체에 착생한 동·식물과 불순물을 핀셋으로 제거하고 유회용 붓과 여과해수(0.45 µm)를 사용하여 수회 세척하였다. 세척된 솜대마디말 성체 3 g(습중량)과 멸균해수(100 mL)를 파쇄기(BL3001, Tefal)에 넣고 8,000 rpm으로 10 s 동안 세단한 후 망목(Ø 0.5 mm)으로 여과하고 메스실린더로 침강시켜 절편(fragment)을 가진 현탁액을 만들었다. 솜대마디말 현탁액의 농도는 100 fragments mL⁻¹였으며, 각 절편은 3-4개 세포(cell)을 가지고 있었다. 온도와 광도가 유주자 방출에 미치는 영향을 파악하기 위하여, 슬라이드 조각(2.5×2.5 cm) 1개와 PES 배지(5 mL, Provasoli, 1968)가 담긴 24개의 페트리디쉬(Ø 6 cm)에 스포이드를 이용하여 절편 현탁액 1 mL를 각기 접종하였다. 다른 온도(15, 20, 25, 30°C)와 광도(50, 100 µmol photons m⁻²s⁻¹)로 세팅된 배양기(Bionex, Korea)에서 3일 동안 배양하였으며 광주기는 12:12h L:D로 동일하였다. 유주자 방출을 위한 예비 실험은 4개 온도(20, 25, 30, 35°C)에서 수행되었으며, 35°C에서는 접종된 절편이 2일 이내에 탈색되어 본 실험에서는 제외되었다. 광도는 디지털 광도계(DX-200, Takemura)로 확인하였고, 광도별로 3개의 반복구를 두었으며, 배양기간에 규조류의 성장을 억제하기 위하여 GeO₂ (5 mg L⁻¹)를 PES 배지에 첨가하였다(Shea and Chopin, 2007). 배양 3일 후, 솜대마디말 성체 절편은 유주자를 생성 및 방출하였으므로, 실험구별로 슬라이드 조각에 착생된 솜대마디말 배아를 계수(germlings mm⁻²)하여 광도가 유주자 방출에 미치는 영향을 확인하였다. 착생한 배아의 수는 슬라이드 조각을 Sedgwick-Rafter Chamber 위에 놓고 반복구별로 1 mm²의 면적을 5개(합계, 5 mm²) 무작위로 선택하여 광학현미경(Olympus, BX53F, Japan)하에서 계수하였다.

또한, 염분 농도가 유주자 방출에 미치는 영향을 파악하기 위하여, 다양한 염분농도(5, 15, 25, 34, 45 psu)를 가진 해수를 준비한 후 PES배지를 만들었다. 멸균해수의 염분은 34 psu였으며, 저염분 농도(5, 15, 25 psu)는 멸균해수(34 psu)를 3차 증류수로 희석하여 만들었으며, 45 psu의 해수는 멸균해수에 천일염을 첨가하였다. 배양액의 염분 농도는 염분계(Atago, S/Mil, Japan)로 측정 및 확인하였고 배양기의 온도, 광도 및 광주기는 예비실험에서 최적성장 조건으로 확인된 25°C, 100 µmol photons m⁻²s⁻¹과 12:12h L:D로 동일하게 유지하였다.

생활사와 배아생장

솜대마디말 배아의 성장과 발생과정을 확인하기 위하여, 세척된 솜대마디말 염체 3 g을 유리 슬라이드 조각(2.5×2.5 cm)이 바닥에 깔린 페트리디쉬(Ø 9 cm)에 멸균해수(34 psu, 100 mL)와 함께 넣은 후, 20°C와 100 µmol photons m⁻²s⁻¹의 연속광으로 세팅된 incubator에서 유주자 방출을 유도하였다. 유주자 방출 및 착생이 확인된 실험 개시 2일 후, 무작위적으로 선택된 슬

라이드 조각 1개를 PES 배지(15 mL)가 담긴 페트리디쉬(Ø 6 cm)에 넣고 생활사를 확인하고 생장을 비교하기 위하여 하단에 언급한 다양한 환경조건에서 배양하였다. 모든 실험에서 구조류의 생장을 억제하기 위하여 GeO_2 (5 mg L^{-1})를 배양액에 첨가하였고, 배양액은 3일 간격으로 전량 교환하였다. 광학현미경에 부착된 디지털카메라로 배아를 촬영한 후 Image J 프로그램 (1.40s, National Institute of Health, Bethesda, USA)을 이용하여 길이를 측정하였고, 상대성장률(RGR, relative growth rate)을 아래의 식으로 계산하였다(Serisawa et al., 2002).

$$\text{RGR} (\% \text{ day}^{-1}) = 100(\ln L_2 - \ln L_1) / (T_2 - T_1)$$

L_2 는 배양 종료 시, L_1 은 배양 개시 때의 배아 길이이고 $T_2 - T_1$ 는 배양기간(day)을 나타낸다. 생활사 관찰을 위하여, 배아가 착생된 슬라이드 조각과 15 mL의 PES 배양액이 담긴 페트리디쉬(Ø 6 cm)를 최적 생장조건으로 확인된 25°C , $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 와 12:12h L:D로 세팅된 배양기에서 한 달 동안 배양하였다. 배양액 준비 및 교환은 상기와 동일하였으며, 솜대마디말의 형태적 특징은 광학현미경에 부착된 디지털카메라로 촬영 및 관찰하였다. 환경요인(광도, 온도 및 영양염 농도의 조합)이 배아생장에 미치는 영향을 파악하기 위하여, 배아가 착생한 슬라이드 조각 1개를 15 mL의 멸균해수(34 psu, autoclaved seawater)와 PES 배지가 담긴 페트리디쉬(Ø 6 cm)에 넣고 각기 다른 4개 온도(15, 20, 25, 30°C)와 2개 광도(50, $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)로 세팅된 incubator에서 6일 동안 배양하였다. 이때, 모든 배양기의 광주기는 12:12h L:D로 동일하였으며, 각 반복구에서 배아 30개체를 무작위로 선택하여 길이를 측정하였다. 또한, 염분 농도가 솜대마디말 배아생장에 미치는 영향을 파악하기 위하여, 유리 슬라이드 조각에 착생된 배아를 각기 다른 염분농도(5, 15, 25, 34, 45 psu)를 가진 PES 배지(15 mL)에 넣은 후, 온도(25°C), 광도($100 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$)와 광주기(12:12h L:D)가 동일하게 세팅된 incubator에서 12일 동안 배양하였다. 배양액의 염분농도는 유주자 방출 실험과 동일하게 조절되었다.

Table 1. Analysis of variance (two-way ANOVA) for the effects of temperature and irradiance on zoospore release of *Cladophora albida* after 3 days in culture

Source of variation	df	MS	F	P
Temperature (T)	3	10.04	752.02	< 0.001
Irradiance (I)	1	0.24	17.65	< 0.001
Interaction	3	0.02	1.47	0.26
Error	16	0.01		

Tukey test (P=0.05)	
Temperature	15=20<25<30
Irradiance	50<100

통계분석

다양한 환경요인(온도, 광도, 염분)이 솜대마디말의 생장에 미치는 영향을 파악하기 위하여, 통계분석은 Cochran's test로 등분산검정(homogeneity of variances)을 실시하여 데이터의 동질성을 확인한 후, one-way ANOVA test (염분), two-way ANOVA test (온도×광도), three-way ANOVA test (온도×광도×영양염)로 유의차를 검정하였다. 평균에 대한 유의차가 발견되면 Tukey's HSD test 방법으로 사후 검정을 실시하였으며 (Sokal and Rohlf, 1995), 데이터 분석을 위해 사용된 통계 프로그램은 STATISTICA version 7.0이었다.

결 과

유주자방출

솜대마디말은 실험 개시 3일 후에 유주자를 형성하였으며, 유주자 방출은 $15\text{-}30^\circ\text{C}$ 의 온도 범위에서 가능하였고, 모든 온도 실험구에서 $50 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에 비해 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 착생된 배아가 많았다. 또한, 유주자 방출은 15 와 20°C 에 비해 25 와 30°C 에서 급증하였으나, 35°C 에서 (예비실험 결과)는 2일 이내에 접종된 절편이 모두 탈색되었다. 착생된 배아 개체수는 30°C 의 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 339.80 ± 3.56 개체 mm^{-2} ($n=3$)로 가장 많았고, 15°C 의 $50 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 24.53 ± 1.91 개체 mm^{-2} 로 최소였으며 온도와 광도별 유의차가 존재하였다($P < 0.01$, Table 1). 솜대마디말의 유주자 형성 및 방출을 위한 적온은 30°C 였으며, 동일한 온도에서는 $50 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에 비해 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 많은 유주자가 방출된 것으로 확인되었다 (Fig. 1).

솜대마디말의 유주자는 모든 염분 실험구(5-45 psu)에서 방출되었으며, 착생된 배아수는 34 psu에서 332.80 ± 8.01 개체 mm^{-2} 로 가장 많았고, 5 psu에서 29.00 ± 0.60 개체 mm^{-2} 로서 최소였다. 솜대마디말의 유주자 방출을 위한 해수의 최적 염분농

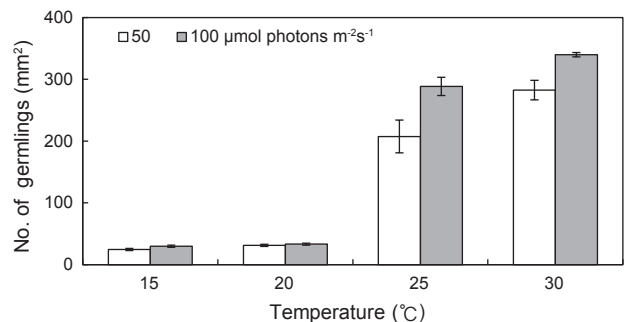


Fig. 1. Effects of temperature and irradiance on the zoospore release examined with number of settled germlings (mm^{-2}) of *Cladophora albida* fragments. Data represent mean±SE ($n=3$ replicates).

도는 34 psu의 평균해수였으며, 고염분(45 psu)에 비해 저염분인 5, 15 psu에서 유주자 방출은 억제되었다. 유주자 방출은 염분 농도별 유의차를 보였지만($F_{4,10}=612.81, P<0.01$), 저염분(5, 15 psu)과 고염분(34, 45 psu)에서는 유의차가 없었다($P<0.01$).

생활사

솨대마디말은 암녹색 또는 밝은 녹색이며, 체장은 1-5 cm이다. 정단 세포는 둥글고 세포 길이는 $165.90 \pm 2.18 \mu\text{m}$ (mean \pm SE, $n=10$ cells)였으며 직경은 $42.92 \pm 1.20 \mu\text{m}$ ($n=10$)로서 길이/직경의 비율은 3.96 ± 0.10 이다(Fig. 2A). 성체 절편(3-4 cells)은 연속광에서 접종 2일 이내에 배우자낭(gametangia)을 형성하였고 세포의 옆면에 방출공이 생성된 후 배우자(n)를 배양액으로 방출하였다(Fig. 2B). 서양배 모양의 배우자는 편모 2개로 빠른 움직임을 보였으며(Fig. 2C), 배우자 2개가 접합되면서 이동성은 감소하고 나중에 기질에 착생하였다(Fig. 2D). 동형 배우자 결합에 의한 접합자는 편모 4개와 안점 2개를 가지고 착생

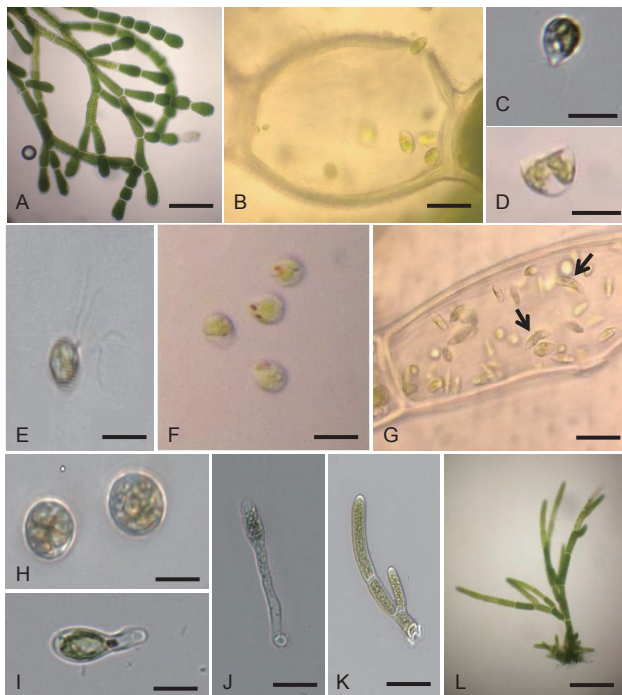


Fig. 2. Growth and reproduction of *Cladophora albida*. (A) Field-collected sample. (B) Gametes released via liberation pore. (C) A pear-shaped zoospore. (D) A conjugated gamete having four flagella. (E) A zygote with four flagella. (F) Settled zygotes with distinct eye spots. (G) A fertile cell having gametes conjugated from the posterior ends of each zoospore (arrows). (H) Zygotes showing cell division. (I) Germlings with primary rhizoid. (J) A germling showing apical growth. (K) Twelve-day old germling. (L) A adult plant with many branches after 30 days in culture. Scale bars represent: (A) and (L), 200 μm ; (B), 20 μm ; (C), (D), (E), (F) and (I), 10 μm ; (G) and (J), 25 μm ; (H), 5 μm ; (K), 50 μm .

시에 편모가 소멸되었다(Fig. 2E, 2F). 때로는 성숙한 세포 안에서 배우자 2개의 접합이 일어나기도 하였으며(Fig. 2G), 세포 밖으로 방출된 배우자 혹은 접합자는 기질에 착생하면서 세포 분열을 시작하였고(Fig. 2H), 가근이 형성되었으며(Fig. 2I), 빠르게 성장하였다(Fig. 2J). 접종 12일 후, 엽체의 분지가 관찰되었으며(Fig. 2K), 30일 후에는 많은 가지를 가진 성체가 되었다(Fig. 2L).

배아생장

솨대마디말 배아는 다양한 온도(15, 20, 25, 30 $^{\circ}\text{C}$), 광도(50, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)와 영양염 농도(평균해수와 PES 배지)에서 19.9-32.9% day^{-1} 의 성장률을 보였다(Fig. 3A, 3B). 배양 6일 후, 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 평균해수와 PES 배지에서 성장한 배아들의 평균 길이는 40 μm 로서, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 성장한 배아들의 평균 길이인 44 μm 에 비해 현저하게 느린 성장을 보였다($P<0.01$, Table 2). 배아 생장은 두 개의 광도에서 25 $^{\circ}\text{C}$ 까지 온도와 정비례 관계를 보였으나, 30 $^{\circ}\text{C}$ 에서는 오히려 억제되었고, 동일한 온도조건에서는 평균해수에 비해 영양염 농도가 높은 PES배지에서 빠른 성장을 하였다(Fig. 3A, 3B). 배아의 길이는 25 $^{\circ}\text{C}$, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

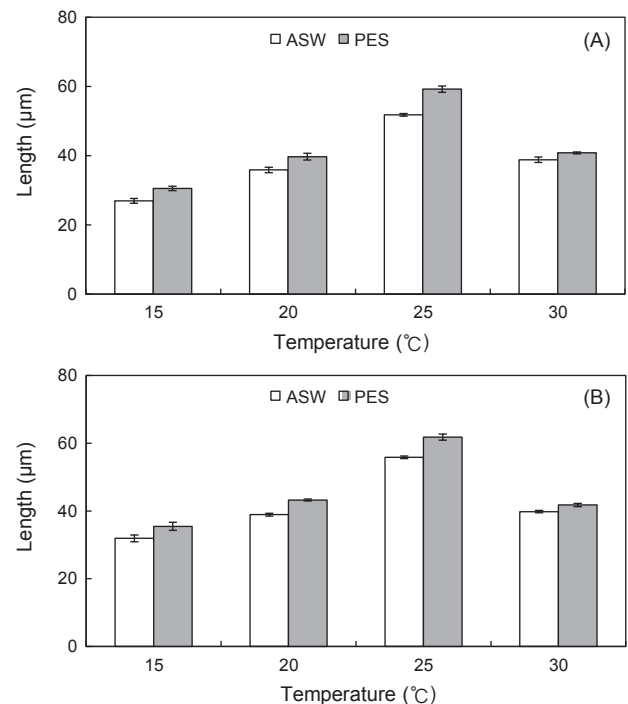


Fig. 3. Effects of temperature and nutrient condition on the growth of *Cladophora albida* cultured for 6 days at 50 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (A) and 100 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (B). Vertical bars indicate standard errors ($n=3$ replicates). ASW, Autoclaved seawater; PES, Provasoli enriched seawater.

Table 2. Analysis of variance (three-way ANOVA) for juvenile growth *Cladophora albia* grown at different temperature, nutrient and irradiance

Source of variation	df	MS	F	P
Temperature (T)	3	1423.25	915.15	< 0.001
Nutrient (N)	1	199.68	128.39	< 0.001
Irradiance (I)	1	118.13	75.96	< 0.001
T×N	3	11.52	7.41	< 0.001
T×I	3	7.93	5.10	< 0.01
N×I	1	0.23	0.15	0.71
T×N×I	3	0.57	0.36	0.78

와 PES 배지에서 최대($61.79 \pm 0.93 \mu\text{m}$)였으며, 실험구에서 가장 낮은 온도인 15°C 와 $50 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 그리고 평균해수의 조합에서 최소값($26.97 \pm 0.69 \mu\text{m}$)을 보였다. Three-way ANOVA에서 온도, 영양염, 광도는 유의차를 보였으며 ($P < 0.01$), 온도×영양염과 온도×광도의 상호작용도 있는 것으로 나타났다($P < 0.01$, Table 2). 솜대마디말 배아는 다양한 염분 실험구(5, 15, 25, 34, 45 psu)에서 성장하였으며, 배양 12일 후에 배아의 길이는 $58.39\text{--}193.10 \mu\text{m}$ 였다(Fig. 4). 배아의 길이는 정상해수(34 psu)에서 $193.10 \pm 5.72 \mu\text{m}$ 로 최대였으며, 저염분(5, 15 psu)이나 고염분(45 psu)에서는 더딘 성장을 보였다. 배아의 상대성장률은 $15.08\text{--}25.85\% \text{ day}^{-1}$ 로서 염분 농도별 유의차를 보였지만($P < 0.01$), 3개의 농도(25, 34, 45 psu)에서는 유의차가 없었다.

고 찰

녹조류의 대발생은 유주자 혹은 접합자에 의한 유성생식(sexual reproduction)과 잘려진 모체의 일부가 새로운 성체로 성장하는 무성생식(vegetative reproduction), 혹은 유·무성의

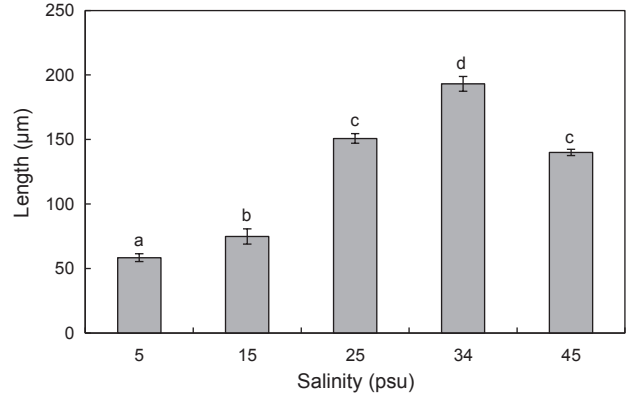


Fig. 4. Average lengths of *Cladophora albia* germlings cultured under different salinity levels for 12 days. Culture conditions were 25°C , 12:12h L:D and $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Vertical bars indicate standard errors ($n=3$ replicates). Different letters indicate significant group of mean found with the Tukey's HSD test.

2가지 생식방법에 의해 일어나는데, 본 연구에서 솜대마디말 절편은 성장하지 않고 짧은 기간(2-3일)에 유주자를 대량 생성 및 방출하였다. 솜대마디말 절편의 유성생식은 대발생을 일으킨 *Monostroma grevillei* var. *arcturum*과 유사하였으나(Bast et al., 2009; Xu et al., 2013), 절편생장(영양생장의 한 형태)을 통하여 생물량을 증가시킨 *Cladophora monteagneana*와 금발대마디말과는 구별되었다(Kamermans et al., 1998; Na et al., 2016). 중국에서 2008년에 일어난 세계 최대 규모의 가시파래 대발생은 다량의 포자를 생성 및 방출하는 유성생식방법과 절편에서 생성된 수 많은 소엽이 새로운 개체로 성장하는 무성 생식방법에 의해 일어났다(Gao et al., 2010; Zhang et al., 2016).

본 연구에서 솜대마디말 성체의 절편은 25°C , $100 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 34 psu와 연속광, 그리고 PES 배지에서 배양 2일 이내(12 h에서 3일 이내)에 유주자가 생성 및 방출되었다. 선

Table 3. Environmental conditions and the period of zoospore formation of green tide macroalgae

Species	Temperature ($^\circ\text{C}$)	Irradiance ($\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Daylength (h)	Nutrient type	Salinity (psu)	Zoospore formation (day)	References
<i>Ulva australis</i>	20	100	12	ASW	-	2-3	Hiraoka and Enomoto (1998)
<i>Ulva fasciata</i>	25-30	15	12	-	15	2	Mantri et al. (2011)
	25-35	15	12	-	15-30	6 (80-100%)	Mantri et al. (2011)
<i>Ulva intestinalis</i>	-	50	12	MGM	-	8-15	Ruangchuay et al. (2012)
<i>Ulva prolifera</i>	20	40	12	-	20-32	4 (80-100%)	Dan et al. (2002)
<i>Chaetomorpha linum</i>	20	100	24	ASW	34	4	Han et al. (2016)
<i>Chatomorpha valida</i>	22	72	10	-	-	7-14	Deng et al. (2013)
<i>Cladophora albia</i>	25	100	12	PES	34	3	This study
	25	100	24	PES	34	2	This study

ASW, Autoclaved seawater; MGM, Modified von Stosch medium; PES, Provasoli enriched seawater; -, no data

행연구에서, 대발생종인 갈파래류와 염주말류의 유주자 생성은 20°C, 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 12 h 이상의 환경조건에서 일어났으며, 유주자 생성기간은 종별 차이를 보였다(Table 3). 하지만, 갈파래류 중에서 *Ulva fasciata*는 15 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서도 대부분의 엽체가 2-6일 이내에 유주자를 형성하여 다른 종과 구별되었다(Table 3). 또한, 일반적으로 대발생 종의 유주자 생성은 다양한 영양염(ASW, PES)과 염분농도(15-34 psu)에서 4일 이내에 일어났으며, 늦어도 1-2주일 이내에 성숙되었다. 본 연구 대상인 솜대마디말은 이전에 대발생을 일으켰던 다른 종과 유사하게 짧은 기간(3일 이내)에 유주자가 형성 및 방출됨을 확인할 수 있었다.

해조류의 생식적인 분화(reproductive differentiation)와 포자형성(sporulation)은 높은 광도와 온도에서 촉진되었으며, 녹조 대발생종인 가시파래에서도 유사한 경향을 보였다(Dan et al., 2002; Lüning et al., 2008). 솜대마디말의 유주자 방출량(착생된 배아의 개체수 기준)은 25와 30°C에서 약 280 개체 mm^{-2} 로서 15와 20°C의 30 개체 mm^{-2} 에 비해 약 9배 많았고, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 173 개체 mm^{-2} 로 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 136 개체 mm^{-2} 에 비해 약 1.3배 높은 것으로 확인되어 수온과 광도에 비례하는 것으로 나타났다. 본 연구에서 솜대마디말은 여름철 조건대 중부에서 발견되는 종으로서, 유주자 생성 및 방출의 최적 온도인 25와 30°C는 간조시에 엽체가 경험하는 온도이며, 밀물 때 유주자 방출이 일어나고 배아 생장은 약간 낮은 수온인 25°C에서 최대인 것은 생식 및 성장 시기와 관련되는 것으로 사료된다. 솜대마디말 채집지인 충청남도 태안군에서 2016년의 월 평균 수온은 7월에 19°C, 8-9월에 23°C로서 여름철에 유주자가 생성 및 방출되지만 대발생이 일어나는 25°C 이상의 수온에는 도달하지 않는 것으로 예측된다.

솜대마디말 배아는 다양한 온도(15-30°C)에서 성장하였으며, 저온(15°C)에 비해 고온(20, 25, 30°C)에서, 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에 비해 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서, 그리고 멸균해수보다는 영양염이 첨가된 PES배지에서 빠른 성장을 보였다. 특히, 솜대마디말 배아의 성장률은 25°C의 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 과 PES배지에서 32.91% day^{-1} 로 최대를 보였는데, 실염주말(*Chatomorpha linum*) 배아의 성장률인 26.56% day^{-1} (최적 환경인 25°C와 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서)와 가시파래 성체의 성장률인 20% day^{-1} (20°C와 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에 비해 높은 것으로 확인되었다(Luo et al., 2012; Han et al., 2016). 이처럼 솜대마디말은 다른 종들에 비해 빠른 성장률을 보임으로써, 향후 솜대마디말 대발생은 온도와 광도가 높은 여름철에 부영양화 해역에서 일어날 가능성이 높다.

솜대마디말의 유주자 생성 및 방출과 배아생장은 다양한 염분농도(5-45 psu)에서 일어났으며, 정상해수인(34 psu, 26% day^{-1})에 비해 저염분(5, 15 psu)과 고염분(45 psu)에서 생장은 감소되었으나 여전히 빠른 성장(15-23% day^{-1})을 보였다. 한편, 솜대마디말 성체의 성장률은 25 psu에서 40% day^{-1} 로서 배아에 비

해 높게 나타났으며, 10-30 psu 범위에서도 20-40% day^{-1} 의 높은 성장률을 유지하였다(Gordon et al., 1980). 대발생을 일으켰던 대마디말류 해조류가 최대 성장을 보였던 염분농도는 24 psu(7% day^{-1} , *C. laetevirens*), 27 psu(6% day^{-1} , *C. dalmatica*)과 30 psu(23% day^{-1} , *C. coelothrix*)로 종별로 최대 성장을 위한 최적 염분농도와 성장률이 다르게 나타났으나, 일반적으로 정상해수(34 psu)에 비해 약간 낮은 염분에서 주로 빠른 성장을 보였다(Taylor et al., 2001; de Paula Silva et al., 2008; Hayakawa et al., 2012). 한편, 낮은 염분(0-15 psu)에서 *C. laetevirens*의 성장률은 4% day^{-1} 이하로 감소하였으나(Hayakawa et al., 2012), 연구대상종은 5와 15 psu에서도 15-18% day^{-1} 의 높은 성장률을 보였다. 솜대마디말 배아와 성체는 다양한 염분농도(5-45 psu)에서 높은 성장률을 보임으로써, 다른 대마디말속에 속하는 종에서처럼 영양염이 풍부하고 염분이 낮은 석호(lagoon)와 내만(gulf), 강과 바다가 만나는 하구(estuary) 등 다양한 지역에서 번무할 것으로 사료된다.

솜대마디말은 다양한 환경(온도·광도·염분 등)에서 유주자를 생성 및 방출하였으며, 배아 성장도 광온 및 광염성을 보였고 이전에 대발생을 일으켰던 녹조류의 다른 종들에 비해 빠른 성장률을 보였다. 따라서, 솜대마디말은 적절한 온도(25°C)와 광도(100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 등 환경조건이 갖춰지면 짧은 기간에 유성 및 무성생식을 반복하면서 대발생을 일으킬 것으로 생각된다.

사 사

이 논문은 해양수산부의 재원으로 해양수산생명공학기술개발사업 연구개발비 지원에 의해 수행되었습니다. 또한, 2016년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 연구(NRF-2016R1A2B1013402)로서 이에 감사드립니다.

References

- Balkis N, Sivri N, Fraim NL, Balcı, Durmuş T and Sukatar A. 2013. Excessive growth of *Cladophora laetevirens* (Dillwyn) Kützinger and enteric bacteria in mats in the Southwestern Istanbul coast, Sea of Marmara. IUFJ Biol 72, 43-50.
- Bast F, Shimada S, Hiraoka M and Okuda K. 2009. Asexual life history by biflagellate zooids in *Monostroma latissimum* (Ulotrichales). Aquat Bot 91, 213-218. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.06.006>.
- Cambridge ML, Breema AM and van den Hoek C. 1990. Temperature limits at the distribution boundaries of four tropical to temperate species of *Cladophora* (Cladophorales: Chlorophyta) in the North Atlantic Ocean. Aquat Bot 38, 135-151. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-3770\(90\)90001-2](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3770(90)90001-2).
- Choi TS, Kang EJ, Kim JH and Kim KY. 2010. Effects of salinity on growth and nutrient uptake of *Ulva pertusa* (Chlo-

- rophyta) from an eelgrass bed. *Algae* 25, 17-26. <http://dx.doi.org/10.4490/algae.2010.25.1.017>.
- Dan A, Hirosawa A, Makino K, Ohno M and Critchley AT. 2002. Observation on the effect of salinity and photon fluence rate on the induction of sporulation and rhizoidal formation in the green alga *Enteromorpha prolifera* (Müller) J. Agardh (Chlorophyta, Ulvales). *Fish Sci* 68, 1182-1188. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1444-2906.2002.00553.x>.
- de Paula Silva PH, McBride S, de Nys R and Paul NA. 2008. Integrating filamentous 'green tide' algae into tropical pond-based aquaculture. *Aquaculture* 284, 74-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.035>.
- Deng Y, Tang X, Huang B and Ding L. 2011. Life history of *Chaetomorpha valida* (Cladophoraceae, Chlorophyta) in culture. *Bot Mar* 54, 551-556. <https://doi.org/10.1515/BOT.2011.066>.
- Deng Y, Tang X, Zhan Z, Teng L, Ding L and Huang B. 2013. Culture observation and molecular phylogenetic analysis on the blooming green alga *Chaetomorpha valida* (Cladophorales, Chlorophyta) from China. *Chin J Oceanol Limnol* 31, 552-559. <https://doi.org/10.1007/s00343-013-2216-x>.
- El Shoubaky GA. 2015. On the annually recurrent of green macroalgal bloom phenomenon in Timsah Lake, Suez Canal, Egypt. *J Bio Environ Sci* 6, 300-309.
- Gao G, Zhong Z, Zhou X and Xu J. 2016. Changes in morphological plasticity of *Ulva prolifera* under different environmental condition: A laboratory experiment. *Harmful Algae* 59, 51-58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2016.09.004>.
- Gao S, Chen XY, Yi QQ, Wang GC, Pan GH, Lin AP and Peng G. 2010. A strategy for the proliferation of *Ulva prolifera*, main causative species of green tides, with formation of sporangia by fragmentation. *PLoS One* 5, e8571. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0008571>.
- Gordon DM, Birch PB and McComb AJ. 1980. The effect of light, temperature and salinity on photosynthetic rates of an estuarine *Cladophora*. *Bot Mar* 23, 749-755.
- Gubelit YI and Berezina A. 2010. The causes and consequences of algal blooms: The *Cladophora glomerata* bloom and the Neva estuary (eastern Baltic Sea). *Mar Pollut Bull* 61, 183-188. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.02.013>.
- Ha DS, Yoo HI, Chang SJ and Hwang EK. 2016. Bloom of a filamentous green alga *Cladophora vadorum* (Areschoug) Kützing and nutrient levels at Shangrok beach, Buan, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 49, 241-246. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0241>.
- Han SJ, Na YJ, Jeon DV, Kim YS, Choi HG and Nam KW. 2016. Effects of environmental factors on the zoospore release and germling growth of the green macroalga *Chaetomorpha linum*. *Ocean Polar Res* 38, 47-57. <http://dx.doi.org/10.4217/OPR.2016.38.1.047>.
- Hayakawa Y, Ogawa T, Yoshikawa S, Ohki K and Kamiya M. 2012. Genetic and ecophysiological diversity of *Cladophora* (Cladophorales, Ulvophyceae) in various salinity regimes. *Phycol Res* 60, 86-97. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1835.2012.00641.x>.
- Hiraoka M and Enomoto. 1998. The induction of reproductive cell formation of *Ulva pertusa* Kjellman (Ulvales, Ulvophyceae). *Phycol Res* 46, 199-203. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1835.1998.tb00114.x>.
- Human LRD, Adams JB and Allanson BR. 2016. Insights into the cause of an *Ulva lactuca* Linnaeus bloom in the Knysna Estuary. *S Afr J Bot* 107, 55-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2016.05.016>.
- Kamermans P, Malta E, Verschuure JM, Lentz LF and Schrijvers L. 1998. The role of cold resistance and burial for winter survival and spring initiation of an *Ulva* spp. (Chlorophyta) bloom in a eutrophic lagoon (Veerse Meer lagoon, The Netherlands). *Mar Biol (Berl)* 131, 45-51. <http://dx.doi.org/10.1007/s002270050295>.
- Lavery PS and McComb AJ. 1991. The nutritional ecophysiology of *Chaetomorpha linum* and *Ulva rigida* in Peel Inlet Western Australia. *Bot Mar* 34, 251-260. <https://doi.org/10.1515/botm.1991.34.3.251>.
- Le Luherne E, Réveillac E, Ponsoero A, Sturbois A, Ballu S, Perdriau M and Le Pape O. 2016. Fish community responses to green tides in shallow estuarine and coastal areas. *Estuar Coast Shelf Sci* 175, 79-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2016.03.031>.
- Lin A, Shen S, Wang J and Yan B. 2008. Reproduction diversity of *Enteromorpha prolifera*. *J Integr Plant Biol* 50, 622-629. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00647.x>.
- Lotze HK, Schramm W, Schories D and Worm B. 1999. Control of macroalgal blooms at early developmental stages: *Pilayella littoralis* versus *Enteromorpha* spp. *Oecologia* 119, 46-54. <http://dx.doi.org/10.1007/s004420050759>.
- Lotze HK, Worm B and Sommer U. 2000. Propagule banks, herbivory and nutrient supply control population development and dominance patterns in macroalgal blooms. *Oikos* 85, 46-54. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.890106.x>.
- Lüning K, Kadel P and Pang SJ. 2008. Control of reproduction rhythmicity by environmental and endogenous signals in *Ulva pseudocurvata* (Chlorophyta). *J Phycol* 44, 866-873.
- Luo MB, Liu F and Xu ZL. 2012. Growth and nutrient uptake capacity of two co-occurring species, *Ulva prolifera* and *Ulva linza*. *Aquat Bot* 100, 18-24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2012.03.006>.
- Malkin SY, Guildford SJ and Hecky RE. 2008. Modeling the growth response of *Cladophora* in a Laurentian Great Lake to the exotic invader *Dreissena* and to lake warming. *Limnol Oceanogr* 53, 1111-1124. <http://dx.doi.org/10.4319/lo.2008.53.3.1111>.
- Mantri VA, Singh RP, Bijo AJ, Kumari P, Reddy CRK and Jha B. 2011. Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in *Ulva fasciata* (Chlorophyta, Ulvales). *J Appl*

- Phycol 23, 243-250. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-010-9544-4>.
- Moreno-Marín F, Vergara JJ, Pérez-Llorens JL, Pedersen MF and Brun FG. 2016. Interaction between ammonium toxicity and green tide development over seagrass meadows: a laboratory study. *PloS one* 11, e0152971. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0152971>.
- Na YJ, Jeon DV, Lee JR, Kim YS, Choi HG and Nam KW. 2016. Effects of temperature, irradiance, and nutrient type on the fragment growth of green tide alga *Cladophora vadorum*. *Korean J Fish Aquat Sci* 49, 657-664. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0657>.
- Nelson T, Lee D and Smith B. 2003a. Are 'green tides' harmful algal blooms? Toxic properties of water-soluble extracts from two bloom-forming macroalgae, *Ulva fenestrata* and *Ulvaria obscura* (Ulvothyceae). *J Phycol* 39, 874-879. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.02157.x>.
- Nelson TA, Nelson AS and Tjoelker M. 2003b. Seasonal and spatial patterns of "green tides" (Ulvoid algal blooms) and related water quality parameters in the coastal of Washington State, U.S.A. *Bot Mar* 46, 263-275. <https://doi.org/10.1515/BOT.2003.024>.
- Nelson TA, Haberlin K, Nelson AV, Ribarich H, Hotchkiss R, Van Alstyne KL, Buckingham L, Simunds DJ and Fredrickson K. 2008. Ecological and physiological controls of species composition in green macroalgal blooms. *Ecology* 89, 1287-1298. <http://dx.doi.org/10.1890/07-0494.1>.
- Panov VE, Alimov AF, Golubkov SM, Orlova MI and Telesh IV. 2002. Environmental problems and challenges for coastal zone management in the Neva Estuary (Eastern Gulf of Finland). In: Schernewski G and Schiewer U (Eds.) *Baltic Coastal Ecosystems. Structure, Function and Coastal Zone Management*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 171-184.
- Pedersen MF and Borum J. 1997. Nutrient control of estuarine macroalgae: growth strategy and the balance between nitrogen requirements and uptake. *Mar Ecol Prog Ser* 161, 155-163. <http://dx.doi.org/10.3354/meps161155>.
- Provasoli L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: *Cultures and Collections of Algae*. Watanabe A. and Hattori A (Eds.) *Proceeding of the US-Japan Conference*, Japanese Society for Plant Physiology, Tokyo, Japan, 63-75.
- Rinehart S, Guidone M, Ziegler A, Schollmeier T and Thornber C. 2014. Overwintering strategies of bloom-forming *Ulva* species in Narragansett Bay, Rhode Island, U.S.A. *Bot Mar* 57, 337-341. <http://dx.doi.org/10.1515/bot-2013-0122>.
- Ruangchuay R, dahamat S, Chirapat A, and Notoya M. 2012. Effects of culture conditions on the growth and reproduction of Gut Weed, *Ulva intestinalis* Linnaeus (Ulvales, Chlorophyta). *Songklanakarini J Sci Technol* 34, 501-507.
- Serisawa Y, Yokohama Y, Aruga Y and Tanaka J. 2002. Growth of *Ecklonia cava* (Laminariales, Phaeophyta) sporophytes transplanted to a locality with different temperature conditions. *Phycol Res* 50, 201-207. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1835.2002.00274.x>.
- Shea R and Chopin T. 2007. Effects of germanium dioxide, an inhibitor of diatom growth, on the microscopic laboratory cultivation stage of the kelp, *Laminaria saccharina*. *J Appl Phycol* 19, 27-32. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-006-9107-x>.
- Smith JE, Runcie JW and Smith CM. 2005. Characterization of a large-scale ephemeral bloom of the green alga *Cladophora sericea* on the coral reefs of West Maui, Hawai'i. *Mar Ecol Prog Ser* 302, 77-91. <http://dx.doi.org/10.3354/meps302077>.
- Sokal RR and Rohlf FJ. 1995. *Biometry*, 3rd Edition. Freeman, New York, U.S.A.
- Song W, Li Y, Fang S, Wang Z, Xiao J, Li R, Fu N, Zhu M and Zhang X. 2015. Temporal and spatial distribution of green algae micro-propagules in the coastal waters of the Subei Shoal, China. *Estuar Coast Shelf Sci* 163, 29-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2014.08.006>.
- Tang YZ and Gobler CJ. 2011. The green macroalga, *Ulva lactuca*, inhibits the growth of seven common harmful algal bloom species via alleopathy. *Harmful Algae* 10, 480-488. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2011.03.003>.
- Taylor R, Fletcher RL and Raven JA. 2001. Preliminary studies on the growth of selected 'green tide' algae in laboratory culture: effects of irradiance, temperature, salinity and nutrients on growth rate. *Bot Mar* 44, 327-336. <http://dx.doi.org/10.1515/BOT.2001.042>.
- Xu D, Li F, Gao Z, Wang D, Zhang X, Ye N and Zhung Z. 2013. Facilitative interactions between the green-tide macroalga *Monostroma arctium* and the red macroalga *Porphyra yezoensis*. *J Exp Mar Biol Ecol* 444, 8-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2013.03.004>.
- Ye NH, Zhang XW, Mao YZ, Liang CW, Xu D, Zou I, Zhung ZM and Wang QY. 2011. 'Green tides' are overwhelming the coastline of our blue planet: taking the world's largest example. *Ecol Res* 26, 477-485. <http://dx.doi.org/10.1007/s11284-011-0821-8>.
- Zhang J, Kim JK, Yarish C and He P. 2016. The expansion of *Ulva prolifera* O.F. Müller macroalgal blooms in the Yellow sea, PR China, through asexual reproduction. *Mar Pollut Bull* 104, 101-106. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.056>.